

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



1 OCT 2004

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
23. Oktober 2003 (23.10.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/086461 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 45/00 (74) Anwalt: PATENTANWÄLTE RUFF, WILHELM, BEIER, DAUSTER & PARTNER; Kronenstrasse 30, 70174 Stuttgart (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/03892
- (22) Internationales Anmeldedatum:
15. April 2003 (15.04.2003)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
102 17 254.4 15. April 2002 (15.04.2002) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): PROTEOSYS AG [DE/DE]; Carl-Zeiss-Strasse 51, 55129 Mainz (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): CAHILL, Michael [AU/DE]; Weinbergstrasse 34, 55296 Lörzweiler (DE). WOZNY, Wojciech [PL/DE]; Gutenbergstrasse 14, 55268 Nieder-Olm (DE). SCHRATTENHOLZ, André [DE/DE]; Hinter der Kirche 49, 55129 Mainz (DE). KLOCKER, Helmut [AT/AT]; Ziegelstrasse 46a, A-6401 Inzing (AT). ROGATSCH, Hermann [AT/AT]; Hans-Untermüller-Strasse 5/12, A-6020 Innsbruck (AT).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Veröffentlicht:
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.



WO 03/086461 A2

(54) Title: USE OF SUBSTANCES FOR TREATING TUMORS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON SUBSTANZEN ZUR BEHANDLUNG VON TUMOREN

(57) Abstract: The invention relates to the use of an active ingredient, to a method for preventing or treating tumors, to the diagnostic detection of diseases associated with these tumors, and to corresponding pharmaceutical compositions and kits.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Wirkstoffes sowie ein Verfahren zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, diagnostischen Nachweis von mit diesen Tumoren assoziierten Erkrankungen, sowie diesbezügliche pharmazeutische Zusammensetzungen und Kits.

BEST AVAILABLE COPY

Beschreibung

Verwendung von Substanzen zur Behandlung von Tumoren

5

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Wirkstoffes sowie ein Verfahren zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, diagnostischen Nachweis von mit diesen Tumoren assoziierten

10 Erkrankungen, sowie diesbezügliche pharmazeutische Zusammensetzungen und Kits.

Unter Tumor wird eine Geschwulst bzw. die örtlich umschriebene Zunahme des Gewebevolumens verstanden. Im weiteren Sinne kann

15 jede lokalisierte Anschwellung, z. B. durch ein Ödem, einer akuten und chronischen Entzündung, aneurysmatische Erweiterung, einer entzündlich bedingten Organschwellung (z. B. als sogenannter Milztumor) verstanden werden. Im engeren Sinne werden unter Tumor gewebliche Neubildungen (Gewächs, Plastom, Neoplasie) in Form eines

20 spontanen, verschiedengradig enthemmten, autonomen und irreversiblen Überschußwachstums von körpereigenem Gewebe, das in der Regel mit unterschiedlich ausgeprägtem Verlust spezifischer Zell- und Gewebefunktion verbunden ist, verstanden.

Die Tumore werden zur besseren Klassifikation unterteilt in:

25

I. nach ihrem biologischen Verhalten:

30

1. benigne (gutartige) Tumore mit differenzierten Zellen und langsamen, lokal verdrängendem Wachstum.
2. maligne (bösartige) Tumore mit Zellkernpolymorphie, Zellatypie, Anaplasie und infiltrierendem, meist raschem, destruierendem Wachstum und Metastasierung.

3. semimaligne Tumore mit den histologischen Kennzeichen maligner Tumore und lokal infiltrierendem Wachstum, jedoch in der Regel ohne eine Metastasierung.

5

II. histogenetische Systematik:

Hierbei werden die Tumore klassifiziert anhand des Gewebes, aus dem sie entwicklungsgeschichtlich hervorgegangen sind. Es gibt:

10

1. epitheliale Tumore, die aus Ektoderm und Entoderm hervorgegangen sind:

a) benigne Tumore wie z. B. Adenom, Papillom und Polypen.

b) maligne Tumore wie z. B. Karzinom.

15

2. mesenchymale Tumore, hervorgegangen aus dem Mesoderm:

a) benigne Tumore wie z. B. Lipom, Fibrom, Osteom, Myom, Leiomyom, Rhabdomyom, Chondrom,

20

b) maligne Tumore wie z. B. die Sarkome.

3. embryonale Tumore sind aus undifferenziertem Gewebe hervorgegangen. Hierzu zählen z. B. Nephroblastome, Neuroblastome, Medulloblastome, Retinoblastome sowie embryonale Rhabdomyosarkome und Teratome.

25

III. Klassifikation nach klinischen und pathologischen Befunden:

Unter anderem gelten hier die TNM-Klassifikation, Grading, Laurén-Klassifikation, Dukes-Klassifikation, Kieler-Klassifikation, Rappaport-Klassifikation etc.

30

Schon diese kurze Übersicht der Tumoreinteilung zeigt, welche Vielfalt (und zum Teil Gegensätzlichkeit) innerhalb der verschiedenen Tumorarten besteht. So ist z. B. nicht nur zwischen benignen und malignen Tumoren zu unterscheiden, sondern auch zwischen Mortalität
5 bzw. Letalität der einzelnen Tumore und die Wahrscheinlichkeit, daß sich ein benigner Tumor zu einem malignen Tumor weiterentwickelt.

Einzelne Tumore wie z. B. die Mamakarzinome (Brustkrebs), der häufigste maligne Tumor der Frau, treten gehäuft vor allem zwischen
10 dem 45. und 70. Lebensjahr auf. Frühsymptome sind verdächtige Tastbefunde, die in der Regel infolge der Krebsfrüherkennungsuntersuchungen sowie bei regelmäßiger Selbstuntersuchung der Brust entdeckt werden. Abhängig von Tumorstadium und Differenzierungsgrad des Tumors kann dabei die
15 Prognose von durchaus positiv bis sehr schlecht ausfallen. Infolge der frühen lymphogenen und hämatogenen Metastasierung bei Mammakarzinomen kommt es auf eine rasche Diagnostizierung des Tumors an, um frühestmöglich mit der Therapie einsetzen zu können.

20 Prostatakarzinome (Karzinom der Prostata) ist demgegenüber der häufigste maligne Tumor des Mannes, der vor allem zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr auftritt. In der Mehrzahl handelt es sich dabei um Adenokarzinome. Dieser maligne Tumor breitet sich durch infiltrierendes Wachstum zunächst innerhalb der Prostata aus, später erfolgt eine
25 Infiltration von Bläschendrüsen und Beckenbindegewebe, relativ selten auch von Rektum, Harnblase oder Urethra. Die Metastasierung erfolgt lymphogen und/oder hämatogen. Die Therapie erfolgt abhängig vom histologischen Differenzierungsgrad und klinischen Stadium in der Regel durch radikale Prostatektomie mit regionaler Lymphknotenausräumung,
30 im fortgeschrittenen Stadium Entzug der männlichen Sexualhormone. Auch hierbei ist die Prognose abhängig vom Stadium des Karzinoms. Während in einem sehr frühen Stadium nach einer radikalen

Prostatektomie in ca. 90 % der Fälle eine Heilung eintritt, ist bei fortgeschrittenem Stadium eher mit einer pessimistischen Prognose zu rechnen.

- 5 Prostatakarzinome sind von Prostatahyperplasie in der Diagnose zu unterscheiden. Bei der Prostatahyperplasie handelt es sich um einen benignen Tumor. Dabei vergrößert sich die Prostata durch numerische Zunahme der Zellen und Drüsen des Stromas. Die Prostatahyperplasie ist die häufigste Ursache von Blasenentleerungsstörungen bei Männern.
- 10 Klinisch beginnt sie vor allem zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr. Der Verlauf ist langsam und schubweise. Das Auftreten von Beschwerden erfolgt dabei meistens erst nach Jahren mit allmählicher Abschwächung des Harnstrahls und verzögertem Miktionsbeginn. Hierbei kann als Therapie bzw. Linderung der Symptomatik die Verabreichung von
- 15 Phytotherapeutika in Betracht gezogen werden.

Da generell eine frühe Erkennung, d. h. Diagnostizierung, der Tumore für den raschen Therapiebeginn wichtig ist und auch die Prognose um so besser ist, je früher der Tumor erkannt wird, sind eine Reihe von

20 sogenannten Tumormarkern im klinischen Einsatz. Als Tumormarker werden dabei allgemein Substanzen und zelluläre Veränderungen bezeichnet, deren qualitative oder quantitative Analyse eine Aussage über Vorliegen, Verlauf oder Prognose von (bösartigen) Erkrankungen ermöglichen kann. Eingeteilt werden Tumormarker in:

25

1. Zelluläre Tumormarker:

Darunter fallen unter anderem zellmembranständige Tumorantigene, Rezeptoren (z. B. Hormonrezeptoren, Rezeptoren für wachstumsfördernde Substanzen bei

30 Leukämie) und Zellmarker, die auf eine vermehrte Expression von Onkogenen und ein monoklonales

Zellwachstum hindeuten, sowie molekulargenetische zelluläre Veränderungen, vor allem Chromosomenaberrationen.

5 2. Humorale Tumormarker:

 Diese sind gegenüber physiologischen Bedingungen in Serum, Urin und anderen Körperflüssigkeiten in erhöhten Konzentrationen nachweisbare (meist physiologisch vorkommende) Substanzen, die vom Tumorgewebe
10 synthetisiert und/oder sezerniert, durch Tumorzerfall freigesetzt oder als Reaktion des Organismus auf einen Tumor gebildet werden. Die physiologische Bedeutung von Tumormarkern ist nur unzureichend bekannt. Im menschlichen Organismus wirken sie in der Regel nicht
15 immunogen. Die klinische (diagnostische) Bedeutung ist abhängig von ihrer Spezifität und Sensitivität. Die humoralen Tumormarker werden in zwei Gruppen unterteilt. In der ersten Gruppe werden die humoralen Tumormarker zusammengefaßt, die vom Tumor selbst produziert werden.
20 Darunter fallen z. B. tumorassoziierte Antigene, bestimmte Hormone (z. B. Gastrin, Cortisol etc.), Enzyme (z. B. neuronspezifische Enolase (NSE)), sowie Proteine (z. B. Bence-Jones-Protein). In der zweiten Gruppe sind die Tumormarker enthalten, die vom Tumor zwar induziert, aber
25 nicht selbst produziert werden. Wichtige humorale Tumormarker dieser Gruppe sind z. B. alkalische Phosphatase (AP), LDH, Neopterin etc.

 Die bisher gemachten Aussagen zeigen, wie wichtig selektive und
30 sensitive Nachweisverfahren für Tumore sind. Weiterhin besteht ein großer Bedarf an neuen Targets bei der Tumorthherapie.

Dementsprechend stellt sich die Erfindung die Aufgabe, neue Wirkstoffe und Targets für diagnostische und therapeutische Anwendungen bei der Tumorthherapie bereitzustellen.

- 5 Überraschenderweise konnte in Experimenten mit verschiedenen Tumoren gezeigt werden, daß bestimmte Proteine nur in dem von Tumoren befallenen Gewebe synthetisiert und/oder sezerniert wurden. Damit spielen diese Proteine eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Tumoren und dem Verlauf einer Tumorerkrankung.

10

- Demzufolge wird die erfindungsgemäße Aufgabe durch den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche 1 bis 5, 14, 18, sowie 22 gelöst. Bevorzugte Ausführungen sind in den abhängigen Ansprüchen 6 bis 13, 15 bis 17, 19 bis 21 sowie 23 genannt. Der Inhalt aller dieser Ansprüche
15 wird hiermit durch Bezugnahme zum Inhalt der Beschreibung gemacht.

- Erfindungsgemäß kann mindestens ein Wirkstoff zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, verwendet werden. Dabei beeinflußt dieser Wirkstoff die Expression und/oder die
20 Funktion von vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen Zellen, wodurch die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung des Tumors zumindest partiell gehemmt wird. Unter Beeinflussung der Expression und/oder Funktion der vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteine
25 wird insbesondere die Inhibierung dieser Proteine verstanden. Dieser Wirkstoff kann ferner zur Herstellung eines Medikamentes oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren verwendet werden.
- 30 Weiterhin wird die Verwendung einer Substanz zum Nachweis der Expression und/oder der Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in

eukaryotischen Zellen, zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen, beansprucht. Unter Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen, fallen z. B. die schon erwähnten Prostatakarzinome, Prostatahyperplasie
5 (Prostatahypertrophie) etc.. Aber auch alle anderen tumorassoziierten Erkrankungen, in denen die erfindungsgemäßen Proteine synthetisiert und/oder sezerniert werden, werden von der Erfindung umfaßt.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird ein Verfahren zur
10 Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, beansprucht, wobei eukaryotische Zellen mit einem Wirkstoff behandelt werden, der die Expression und/oder die Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und dadurch die Zunahme des Gewebevolumens
15 und/oder die Metastasierung der Tumore zumindest partiell hemmt.

Weiterhin wird in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Erkennung von Erkrankungen, die mit Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, in Zusammenhang stehen,
20 beansprucht, wobei eukaryotische Zellen mit einer Substanz in Kontakt gebracht werden, die die Expression und/oder die Funktion von von diesen Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine nachweist.

Bei den von den Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen kann es sich in einer besonders bevorzugten Ausführungsform um die in der nachfolgend dargestellten Tabelle I aufgelisteten Proteine handeln. Somit kann die Substanz, die zum Nachweis und/oder zur Erkennung von tumorassoziierten Erkrankungen
25 eingesetzt wird, z. B. ein Antikörper sein, der gegen diese Proteine gerichtet ist, und in einem dem Fachmann bekannten Nachweisverfahren, wie z. B. ELISA (enzyme-linked immuno sorbent
30

assay) eingesetzt wird. Bei solchen sogenannten Immunoassays wird der gegen das zu bestimmende Antigen gerichtete spezifische Antikörper (bzw. bei Antikörperbestimmungen homologe Testantigene) an eine Trägersubstanz (z. B. Zellulose, Polysterol) gebunden, an der
5 sich nach der Inkubation mit der Probe Immunkomplexe bilden. In einem nachfolgenden Schritt wird diesen Immunkomplexen ein markierter Antikörper zugeführt. Durch Zugabe eines homogenen Substrates zum Reaktionsansatz können die Immunkomplex-gebundenen Enzym-Substrat-Komplexe sichtbar gemacht bzw. die Antigenkonzentration in
10 der Probe über eine photometrische Bestimmung der Immunkomplex-gebundenen Markerenzyme durch Vergleich mit Standards bekannter Enzymaktivität ermittelt werden. Weitere Substanzen, die für den diagnostischen Nachweis verwendet werden können, sind z. B. sogenannte Oligonukleotide, die mit Hilfe der sogenannten Polymerase-
15 Kettenreaktion (PCR) geeignet sind, über ein molekulargenetisches Verfahren, bei dem selektiv bestimmte DNA-Abschnitte amplifiziert werden, einen quantitativen Nachweis der untersuchten Proteine zu erbringen. Weitere Verfahren, wie ein bekanntes Zielprotein quantitativ oder qualitativ nachgewiesen werden kann, sind dem Fachmann
20 geläufig. Wirkstoffe, die zur zumindest partiellen Hemmung dieser Proteine genutzt werden können, sind ebenfalls dem Fachmann bekannt. So können z. B. sogenannte Antisensesequenzen als Wirkstoff genutzt werden. Weiterhin können gentechnisch veränderte Mutanten dieser Proteine erfindungsgemäß als Wirkstoff genutzt werden, so z. B.
25 sogenannte „deficient mutants“, in denen die enzymatische Aktivität ausgeschaltet wurde.

Tabelle I: Detektierte gewebespezifische Proteine

	acc no	Protein	Scores	MW Theo.	MW Bereich	pI	Expr. cancer
1	gi 1085373	protein disulfide- isomerase EC 5.3.4.1) ER60 precursor - human	319	57883	60000	5,9 6,1	++ ++
2	gi 1374715	ATP synthase beta chain, mitochondrial precursor	284	56525	55000	5,0	++
3	gi 14729950	(XM_028869) isocitrate dehydrogenase 1 (NADP+), soluble [Homo sapiens]	94	47515	42000	6,8	++
4	gi 184326	M12387) haptoglobin precursor [Homo sapiens]	100	47073	22000	5,8	+
5	gi 4505763	(NM_000291) phosphoglycerate kinase 1 [Homo sapiens]	136	45826	40000	8,7	++
6	gi 12056473	(NM_018946) N- acetylneuraminic acid phosphate synthase, sialic acid synthase, sialic acid phosphate	167	41698	37000	6,5	++
7	gi 13111901	(BC003119) Similar to ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, alpha subunit, isofo	76	40614	25000	7,1	++
8	gi 4757756	(NM_004039) annexin A2, annexin II, lipocortin	81	39288	25000	7,1	—

		II, Annexin II (lipocortin I), calpactin I, heavy po					
9	gi 5174541	(NM_005918) malate dehydrogenase 2, NAD (mitochondrial), Malate dehydro-genase, mitochondrial	177	36925	32000 32000	9,2 9,5	++ ++
10	gi 4506237	(NM_002818) proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta), Proteasome activator s	96	27863	30000 30000	5,5 5,6	o ++
11	gi 225915	gamma seminoprotein [Homo sapiens]	120	27843	25000 25000 32000 32000 32000	6,5 6,8 6,8 7,1 7,5	++ ++ o o o
12	gi 999892	Chain A, Triosephosphate Isomerase (Tim) (E.C.5.3.1.1) Complexed With 2-Phosphoglycolic Acid	200	27407	25000 25000 25000	6,5 6,8 7,1	+ + o
13	gi 4507359	(NM_003186) transgelin; smooth muscle protein 22-alpha; 22 kDa actin-binding protein; SM22-alpha	100	22638	15000 20000 20000 21000 23000 23000 23000 23000	5,3 6,6 6,1 6,6 6,9 8,2 9,1 9,6	- - -- -- o o o +
14	gi 5729842	(NM_006708) glyoxalase	135	21415	22000	4,8	++

		I, lactoyl glutathione lyase, lactoylglutathione lyase [Homo sapiens]			22000 22000	4,9 5,0	++ ++
15	gi 4505621	(NM_002567) prostatic binding protein, phosphatidylethanolamine binding protein [Homo sapiens]	160	21398	20000	7,9	+
16	gi 2250701	(AB001517) KNP-I beta protein [Homo sapiens]	68	20819	25000	7,1	++
17	gi 4827038	(NM_005079) tumor protein D52 [Homo sapiens]	131	19851	25000	4,7	++
18	gi 5031635	(NM_005507) cofilin 1 (non-muscle) [Homo sapiens]	125	19199	17000 18000	8,5 6,5	o ++
19	gi 4507387	(NM_003197) transcription elongation factor B polypeptide 1-like, organ of Corti protein 2 [Homo sapiens]	74	19177	18000	4,2	-
20	gi 4503545	(NM_001970) eukaryotic translation initiation factor 5A [Homo sapiens]	102	17530	17000	5,1	+
21	gi 10120703	Chain A, Structure of Human Transthyretin Complexed With Bromophenols: A New Mode Of Binding	164	13930	17000 37000	5,6 5,6	++ o
22	gi 4557581	Fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	60*	15155	18000	6,5	++

Scores = mit Hilfe der MASCOT-Technik ermittelte Treffer.

MW Theo. = Theoretisches (berechnetes) Molekulargewicht.

MW Bereich = Im Molekulargewichtsbereich der angegebenen Markerproteine gefunden.

5 pl = isoelektrische Punkt

Expr. Cancer (0 = sowohl in malignem als auch benignem Gewebe gefunden; + upreguliert; - downreguliert).

- 10 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist der Wirkstoff oder die Substanz gegen die von den Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine selbst gerichtet. Wie schon beschrieben, kann es sich bei den Wirkstoffen z. B. um Antisensesequenzen handeln. Diese sind dann direkt gegen die synthetisierten und/oder sezernierten
- 15 Proteine gerichtet. Weiterhin kann es sich bei dem Wirkstoff um gentechnisch veränderte Mutanten handeln. So können z. B. durch gentechnische Verfahren Mutanten, in denen das katalytische Zentrum ausgeschaltet wird (sogenannte deficient-Mutanten), konstruiert werden. Dabei werden zwar die tumorassoziierten Proteine synthetisiert, sie
- 20 weisen aber keine oder nur eine verminderte enzymatische Aktivität auf. Diese deficient-Mutanten, die zuvor in das Tumorgewebe eingeschleust wurden, können die ihnen zugewiesene Aufgabe im Tumorgewebe nicht erfüllen, womit die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung des Tumors zumindest partiell gehemmt wird.

25

- In einer anderen bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist der Wirkstoff gegen Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologische Vorläufer von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen gerichtet. Diese Aktivatoren, Inhibitoren,
- 30 Regulatoren und/ oder biologische Vorläufer können z. B. up- und downstream liegende Mitglieder der Transduktionskaskade der in Tabelle I aufgelisteten Proteine, Transkriptionsfaktoren, die den

Expressionslevel der genannten Proteine regulieren, aber auch bis jetzt unbekannte Moleküle sein, die durch den Wirkstoff beeinflusst werden und an der Expression und/oder Funktion der genannten Proteine beteiligt sind.

5

Bei der Erfindung ist es möglich, bekannte sowie noch unbekannte Wirkstoffe oder Substanzen zu verwenden. So kann z. B. der Wirkstoff oder die Substanz ein Polynukleotid sein, welches ein Peptid, insbesondere ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Weiterhin kann der Wirkstoff oder die Substanz ein Peptid sein, vorzugsweise ein Polypeptid, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Weiterhin kann der Wirkstoff oder die Substanz ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, sein.

20 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei dem malignen Tumor um ein Prostatakarzinom. Wie schon beschrieben, stellen Prostatakarzinome die häufigsten malignen Tumore bei Männern dar. Nur wenn ein Prostatatumor in einem frühen Stadium nachgewiesen werden kann, z. B. durch prostataspezifische antigenbasierende Massenscreenings (Bartsch G, Horninger W, Klocker H, Reissigl A, Oberaigner W, Schonitzer D, Severi G, Robertson C, Boyle P: Prostate cancer mortality after introduction of prostate-specific antigen mass screening in the Federal State of Tyrol, Austria. Urology 2001; 58:417-24), kann die reine (vorbeugende) chirurgische Entnahme der Prostata in Betracht gezogen werden (Bukkapatnam R, Pow-Sang JM: Radical prostatectomy in the management of clinically localized prostate cancer. Cancer Control 2001; 8:496-502; Pentiyala SN, Lee J,

Hsieh K, Waltzer WC, Trocchia A, Musacchia L, Rebecchi MJ, Khan SA: Prostate cancer: a comprehensive review. Med Oncol 2000; 17:85-105). Für die fortgeschrittene, nicht mehr auf ein Organ begrenzte Erkrankung, ist eine vorbeugende Entnahme der Prostata nicht mehr
5 ausreichend. Für diese zum Teil inoperativen Prostatatumore (Prostatakarzinome) ist, wie schon beschrieben, die Hemmung der männlichen Sexualhormone eine mögliche Therapiewahl (Hussain A, Dawson N: Management of advanced/metastatic prostate cancer: 2000 update. Oncology (Huntingt) 2000; 14; 1677-88; discussion 1688, 1691-
10 4). Diese Hemmung der Produktion männlicher Sexualhormone, zum Teil in Kombination mit der chirurgischen oder pharmakologischen Kastration, inhibiert zum Teil die Proliferation und Metastasierung des Tumors und erlaubt damit dessen Kontrolle für einen gewissen Zeitraum (Afrin LB, Ergul SM: Medical therapy of prostate cancer: 1999. J S C
15 Med Assoc 2000; 96:77-84; Auclerc G, Antoine EC, Cajfinger F, Brunet-Pommeyrol A, Agazia C, Khayat D: Management of advanced prostate cancer. Oncologist 2000; 5:36-44). Die meisten Prostatatumore entwickeln dabei mit der Zeit eine gewisse Resistenz gegenüber dieser endokrinologischen Therapie, und mit der Zeit werden sie androgen-
20 insensitiv (Eder IE, Culig Z, Putz T, Nessler-Menardi C, Bartsch G, Klocker H: Molecular biology of the androgen receptor: from molecular understanding to the clinic. Eur Urol 2001; 40:241-51; Crawford ED, Rosenblum M, Ziada AM, Lange PH: Hormone refractory prostate cancer. Urology 1999; 54:1-7). Weitere mögliche Therapiemöglichkeiten,
25 wie z. B. die Verwendung von cytotoxischen Agenzien (Heidenreich A, von Knobloch R, Hofmann R: Current status of cytotoxic chemotherapy in hormone refractory prostate cancer: Eur Urol 2001; 39:121-30), Gentherapie (Miyake H, Hara I, Kamidono S, Gleave ME: Novel therapeutic strategy for advanced prostate cancer using antisense
30 oligodeoxynucleotides targeting anti-apoptotic genes upregulated after androgen withdrawal to delay androgen-independent progression and enhance chemosensitivity. Int J. Urol 2001; 8:337-49) und

Immunotherapie (Rini BI, Small EJ: Immunotherapy for prostate cancer. Curr Oncol Rep 2001; 3:418-23) befinden sich zwar in der klinischen Erprobung, bis jetzt konnte aber kein signifikanter Erfolg bei der Prostatakarzinombehandlung erzielt werden (DiPaola RS, Kumar P, Hait WN, Weiss RE: State-of-the-art prostate cancer treatment and research. A report from the Cancer Institute of New Jersey. N J Med 2001; 98:23-33). Die Identifizierung von Genen, die nur bei Tumoren exprimiert werden, bzw. in denen eine unterschiedliche Expression in benignen und malignen Tumoren nachgewiesen werden kann, ist deshalb ein erfolgsversprechender Ansatz zur Therapie dieser Tumore (Magee JA, Araki T, Patil S, Ehrig T, True L, Humphrey PA, Catalona WJ, Watson MA, Milbrandt J: Expression profiling reveals hepsin overexpression in prostate cancer. Cancer Res 2001; 61:5692-6; Welsh JB, Sapinoso LM, Su AI, Kern SG, Wang-Rodriguez J, Moskaluk CA, Frierson HF, Jr., Hampton GM: Analysis of gene expression identifies candidate markers and pharmacological targets in prostate cancer. Cancer Res 2001; 61:5974-8; Stamey TA, Warrington JA, Caldwell MC, Chen Z, Fan Z, Mahadevappa M, McNeal JE, Nolley R, Zhang Z: Molecular genetic profiling of Gleason grade 4/5 prostate cancers compared to benign prostatic hyperplasia. J Urol 2001; 166:2171-7; Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, Shah R, Varambally S, Kurachi K, Pienta KJ, Rubin MA, Chinnaiyan AM: Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. Nature 2001; 412:822-6; Waghray A, Schober M, Reroze F, Yao F, Virgin J, Chen YQ: Identification of differentially expressed genes by serial analysis of gene expression in human prostate cancer. Cancer Res 2001; 61:4283-6; Chaib H, Cockrell EK, Rubin MA, Macoska JA: Profiling and verification of gene expression patterns in normal and malignant human prostate tissues by cDNA microarray analysis. Neoplasia 2001; 3:43-52; Chetcuti A, Margan S, Mann S, Russell P, Handelsman D, Rogers J, Dong Q: Identification of differentially expressed genes in organ-confined prostate cancer by gene expression array. Prostate 2001; 47:132-40). Deshalb kann durch

Inhibierung der beschriebenen tumorassoziierten Proteine erfindungsgemäß ein Therapieansatz zur Behandlung dieser Tumore angeboten werden.

- 5 Der Wirkstoff oder die Substanz kann dabei oral, intravenös, topisch und/oder per Inhalation in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform verabreicht werden. Die Verabreichungsform hängt dabei vom Tumor selbst sowie der Konstitution des Patienten ab. Weitere Verabreichungsformen sind dem Fachmann bekannt.

10

- Weiterhin wird von der Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung umfaßt, die eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes, der die Expression und/oder die Funktion von von Tumoren, insbesondere von malignen Tumoren, synthetisierten und/oder
- 15 sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und gegebenenfalls einen pharmazeutischen Träger aufweist. Bei dem Wirkstoff kann es sich um ein Polynukleotid handeln, welches ein Peptid, insbesondere ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren,
- 20 insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Weiterhin kann der Wirkstoff ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, sein, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten
- 25 Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Auch kann der Wirkstoff ein sogenannter „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, sein. Zu den weiteren Merkmalen eines solchen Wirkstoffes wird auf den entsprechenden bisherigen Text der Beschreibung Bezug genommen.

30

Erfindungsgemäß ist auch eine pharmazeutische Zusammensetzung umfaßt, die eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes, der die

Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert, und gegebenenfalls einen pharmazeutischen Träger, aufweist. Dabei kann es sich bei dem Wirkstoff um ein Polynukleotid handeln, welches ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Auch kann der Wirkstoff ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, sein, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteine beeinflusst, insbesondere inhibiert. Ein weiterer erfindungsgemäßer Wirkstoff kann z. B. ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, sein. Zu den weiteren Merkmalen eines solchen Wirkstoffes sowie der Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern, gegen die dieser Wirkstoff gerichtet ist, wird auf den entsprechenden bisherigen Text der Beschreibung Bezug genommen.

Schließlich umfaßt die Erfindung ein Diagnosekit, wobei in diesem Diagnosekit mindestens eine Substanz zum Nachweis der Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen enthalten ist, zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen. Dabei kann z. B. eine dementsprechende Erkrankung ein Prostatakarzinom sein, was in einer besonders bevorzugten Ausführungsform beansprucht wird. Zu weiteren

Merkmale einer solchen Substanz wird auf den entsprechenden bisherigen Text der Beschreibung Bezug genommen.

Die bestehenden Merkmale und weitere Merkmale der Erfindung
5 ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung von bevorzugten Ausführungsformen in Verbindung mit den Unteransprüchen und den Figuren. Hierbei können die einzelnen Merkmale jeweils für sich oder zu mehreren in Kombination miteinander verwirklicht sein.

10 In den Abbildungen zeigen:

Fig. 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus

Fig. 2: Gelelektrophoretische sowie MS-Analyse von benignem und
15 malignem Prostatagewebe und den äquivalenten Spots.

Fig. 3: Präparative Gele mit gewebespezifischer Proteinexpression.

20 **Material und Methoden:**

Patienten und Gewebeproben:

25 Benignes und malignes Prostatagewebe wurde von Patienten, die zuvor einer Prostatektomie unterzogen wurden, erhalten. Die Patienten wurden mit Hilfe des PSA (prostate specific antigen) Screenings nachgewiesen, und die Tumore wurden mit Ultraschall bestätigt. Eine
Einwilligung jedes Patienten wurde vor Durchführung der Operation
30 eingeholt.

Sofort nach der Entnahme der Prostata wurde diese in eine sterile Box überführt und dort gekühlt. Die Proben wurden zum Pathologen überführt, wo 0,5 bis 1 cm dicke Gewebeschnitte gemacht wurden. Die Schnitte wurden in eine linke und eine rechte Hälfte unterteilt, in eine
5 „freezing matrix“ eingebettet und schockgefroren. Der Rest der Prostata wurde in Formalin fixiert und entsprechend Standardverfahren weiterbehandelt. Für den Erhalt von Gewebeproben wurden dünne Sektionen von beiden Seiten der Prostata entnommen und mit Hematoxilin-Aeosin angefärbt. Der Pathologe lokalisierte und markierte
10 den Tumor. Tumorgewebe wurde aus den Hematoxilin-Aeosin-gefärbten Streifen entnommen und bei -80°C aufbewahrt. Markierte benigne Kontrollstreifen wurden von nicht-tumorbefallenen Regionen entnommen und einer identischen Behandlung unterzogen. Die Tumore wurden, sofern erforderlich, bei -80°C gelagert.

15

Proteomics Analyse:

Protein Alkylierung, Jodierung, 2D-PAGE und sowie die Datenanalyse
20 wurden, entsprechend Standardverfahren durchgeführt. Radioaktives Jod stammt von Amersham Biosciences (Freiburg). Die Markierung von Proteinen mit Jod I-125 oder I-131 wurden einzeln mit identischen Konzentrationen an Jod ausgeführt. Sämtliche radioaktiven Arbeiten sind entsprechend der „Strahlenschutzverordnung 2001“ (Deutschland)
25 entstanden. Für die 2D-PAGE sind die Proben miteinander vermischt worden und entsprechend dem Schema von Figur 1 co-elektrophoretisch aufgetrennt worden. Die radioaktiven Messungen sind mit einem „Multiple Photon Detektion“ (MPD) oder einem Phosphorimager (Fuji FLA 3000, Raytest, Straubenhard, Deutschland)
30 durchgeführt worden.

Die „Multiplen Photon Detektion“ Messungen sind an 1600 Pixel MPD Imagers (BioTracers Inc., Herndon, USA), entsprechend den Anweisungen des Herstellers für mindestens 24 Stunden, für einen 24 cm x 24 cm Bereich pro Messung durchgeführt worden. Dabei wurde
5 eine Scannung von 0,5 mm pro Pixel eingestellt. In einigen Fällen sind kleinere Regionen für eine längere Zeit gescannt worden, um eine höhere Sensitivität zu erzielen, oder bei 0,25 mm pro Pixel gescannt worden, um die Auflösung zu erhöhen. Die MPD Imagers wurden dabei darauf eingestellt, entweder I-125 oder I-131 bei jeder Messung zu
10 detektieren. Aufgrund der geringeren Halbwertszeit von I-131 ist dieses Isotop immer vor I-125 für jede einzelne Probe gemessen worden. MPD Daten sind mit der IMAGEVIEW Software (BioTraces) in Matrizendaten überführt worden. Diese Daten sind dann mit der BIOPREPARATION Software entsprechend den Anweisungen des Herstellers analysiert
15 worden. Radioaktive Daten wurden mit Hilfe eines Algorithmus für die Analyse herkömmlicher Software in TIFF-Daten konvertiert. Einige radioaktive Messungen wurden mit einem Phosphorimager durchgeführt.

20 Die Proteinidentifizierung wurde mit präparativen 2D-PAGE-Gelen durchgeführt. Diese Gele enthalten bis zu 1 mg Protein, die unter identischen chemischen Bedingungen wie bei der radioaktiven Jodierung, jedoch unter Zugabe nicht-radioaktiver Jodmoleküle, jodiert wurden. Silbergefärbte Proteine mit einem Laufverhalten wie die
25 radioaktiven Proteine wurden mit Hilfe des Genomic Solutions Flexys Robot automatisiert eingesammelt. In einigen Fällen wurden die silbergefärbten Proteine an den Stellen des Gels entfernt, an denen kein radioaktives Signal vorhanden war, an denen jedoch die Silbergele zwischen benignen und malignen Gewebe sich unterschieden. Gelteile
30 wurden mit Trypsin automatisch in einem Genomic Solutions Investigator Progest verdaut, und 10 % der erhaltenen Proteine wurden auf einen MALDI Template mit Hilfe eines Genomic Solutions

Investigator ProMS Roboter aufgetragen. MALDI-TOF wurde entsprechend den Angaben des Herstellers an einem Bruker AutoFlex durchgeführt. Sofern nötig, wurden bis zu 90% des durch den Trypsinverdau erhaltenen Peptides mit Hilfe der LC/MS/MS Methode analysiert. Dabei war eine LC-Packing Ultimate Micro HPLC mit einen Bruker Esquire Ionenfallen-Massenspektrometer verbunden, oder die Proben wurden mit Hilfe der Nanospray MS/MS Methode am gleichen Massenspektrometer analysiert. Die Proteinidentifizierung wurde mit Hilfe des MASCOT Programms Version 1.07 (Matrix Science, UK), unter Nutzung eigener Algorithmen, durchgeführt.

Resultate:

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung des den Resultaten zugrundeliegenden Versuchsaufbaus. Dabei werden zwei zu analysierende Proben A und B jeweils separat mit I-125 und I-131 markiert, um die jodierten Proben 125-A, 125-B, 131-A und 131-B zu erhalten. In den Gelen 1 und 2 wird jede Probe jeweils im Vergleich zur gleichen, aber anders markierten Probe analysiert, wie es auch in den Figuren dargestellt ist. In den Gelen 3 and 4 werden die Proben A und B gegen die entsprechende andere Probe unter den gleichen Bedingungen analysiert. Somit enthalten diese Gele vier Replikate der Proben A und B, wobei diese in direkter Beziehung zu den Proben A und B stehen

Fig. 2 zeigt die Ergebnisse dieser Versuche. Dabei repräsentiert Fig. 2 A malignes, 2 B benignes sowie 2 C das vergleichende Gel (2 A + 2 B). Fig. 2 C zeigt die unterschiedliche Expression einzelner Proteine in den unterschiedlichen Geweben. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in der schon dargestellten Tabelle I zusammengefaßt.

Fig. 3 zeigt am Beispiel zweier präparativer Gele (pH-Bereich 4-10) die ermittelten Proteine. Es ist insbesondere darauf hinzuweisen, daß mehrere Isoformen einzelner Proteine gefunden wurden. So existieren z. B. für Protein 11 (gamma-seminoprotein) insgesamt 5 Isoformen, die bei pH 6,5 – 7,5 detektiert wurden, womit die Existenz mehrerer Isoformen ein und desselben Proteins bewiesen wurde. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß nicht nur bestimmte Proteine, sondern vor allem auch spezifische Isoformen einzelner Proteine bei Tumoren gebildet werden. Ferner kann gezeigt werden, daß zum Teil die Expression bestimmter Proteine (siehe Tabelle I) gehemmt, d.h. downreguliert wird. Somit stellen diese Proteine geeignete Targets für bekannte und noch zu entwickelnde Wirkstoffe für die Behandlung der mit ihnen assoziierten Erkrankungen, sowie geeignete Targets für den Nachweis dieser Erkrankungen, dar.

15

Patentansprüche

1. Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, wobei der
5 Wirkstoff die Expression und/oder die Funktion von vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen Zellen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und dadurch die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung des Tumors zumindest partiell hemmt.
- 10 2. Verwendung eines Wirkstoffes zur Herstellung eines Medikamentes oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression und/oder die Funktion von vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen
15 Zellen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und dadurch die Zunahme des Gewebevolumens und/oder die Metastasierung des Tumors zumindest partiell hemmt.
- 20 3. Verwendung einer Substanz zum Nachweis der Expression und/oder der Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen Zellen, zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen.
- 25 4. Verfahren zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, dadurch gekennzeichnet, daß eukaryotische Zellen mit einem Wirkstoff behandelt werden, der die Expression und/oder die Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst,
30 insbesondere inhibiert, und dadurch die Zunahme des

Gewebevolumens und/oder die Metastasierung der Tumoren zumindest partiell hemmt.

5. Verfahren zur Erkennung von Erkrankungen, die mit Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, in Zusammenhang stehen, dadurch gekennzeichnet, daß eukaryotische Zellen mit einer Substanz in Kontakt gebracht werden, die die Expression und/oder die Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen nachweist.
6. Verwendung oder Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei den von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen um die Proteine der Tabelle I, insbesondere derer Isoformen, handelt.
7. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz gegen die von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteine gerichtet ist.
8. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz gegen Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen gerichtet ist.
9. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz ein Polynukleotid ist, welches ein Peptid, insbesondere ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten

und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.

10. Verwendung oder Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
5 dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, ist, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.
- 10 11. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) <
15 1.000, ist.
12. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei den malignen Tumoren um Prostatakarzinome handelt.
- 20 13. Verwendung oder Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff oder die Substanz oral, intravenös, topisch und/oder per Inhalation verabreichbar ist.
- 25 14. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes, der die Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und gegebenenfalls einen
30 pharmazeutischen Träger.

15. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein Polynukleotid ist, welches ein Peptid, insbesondere ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.
16. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, ist, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.
17. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 14 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, ist.
18. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes, der die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert, und gegebenenfalls einen pharmazeutischen Träger.
19. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein Polynukleotid ist, welches ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, kodiert, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von

Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.

5

20. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein Peptid, vorzugsweise ein Polypeptid, ist, wobei vorzugsweise dieses Peptid die Expression und/oder Funktion von Aktivatoren, Inhibitoren, Regulatoren und/oder biologischen Vorläufern von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst, insbesondere inhibiert.
- 10
21. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 18 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff ein „small molecular compound“, vorzugsweise ein „small molecular compound“ mit einem Molekulargewicht (MG) < 1.000, ist.
- 15
22. Diagnosekit, umfassend mindestens eine Substanz zum Nachweis von Expression und/oder Funktion von von Tumoren, insbesondere maligner Tumoren, synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen, zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen.
- 20
23. Diagnosekit nach Anspruch 22 zur Erkennung von Prostatakarzinomen.
- 25

30

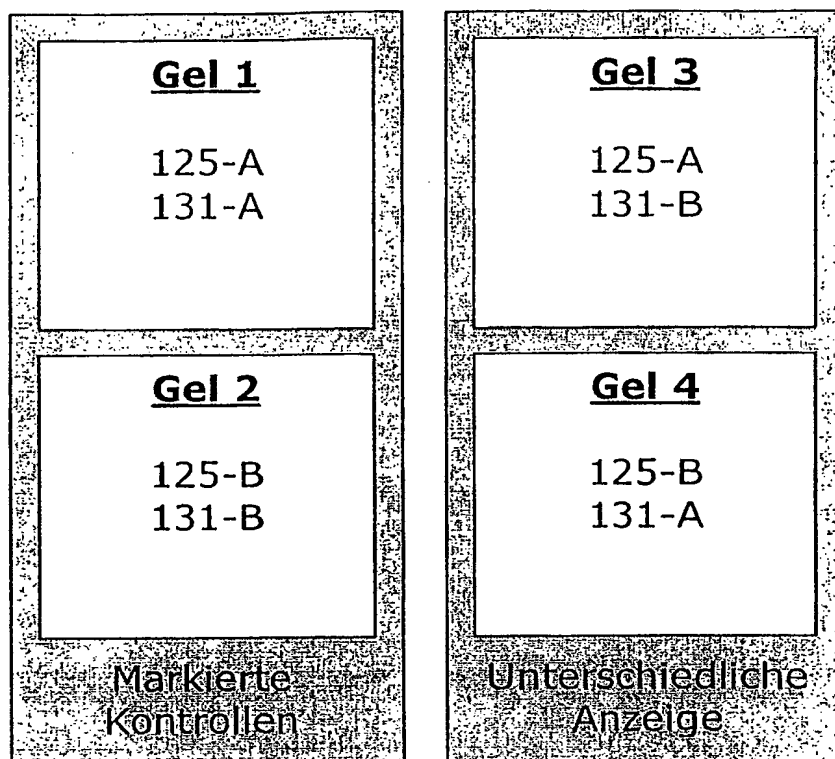
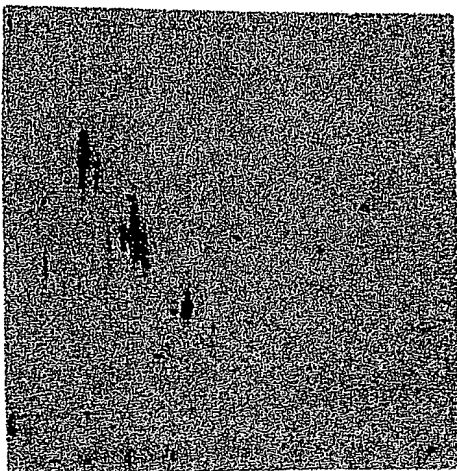


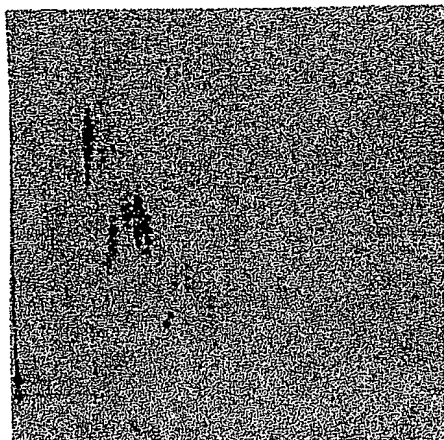
Fig. 1

A= Maligner
B= Benigner

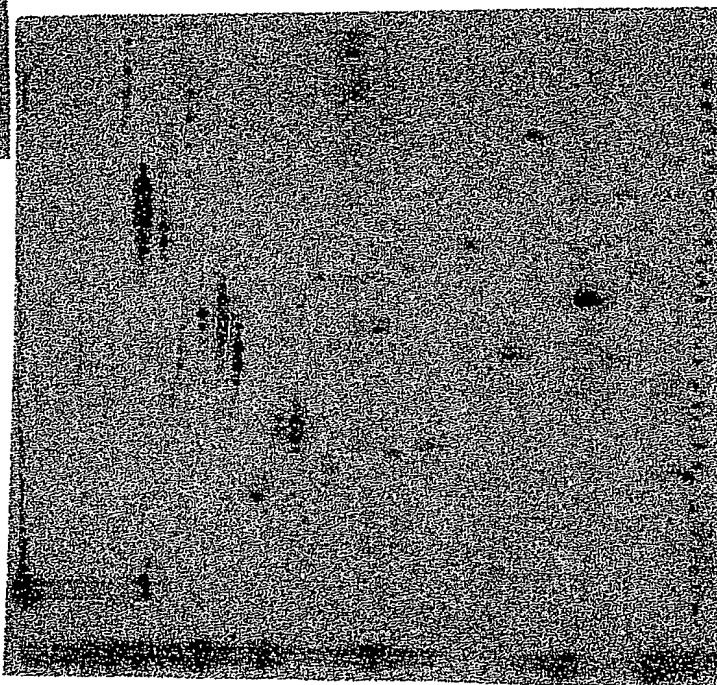
Fig. 2



B



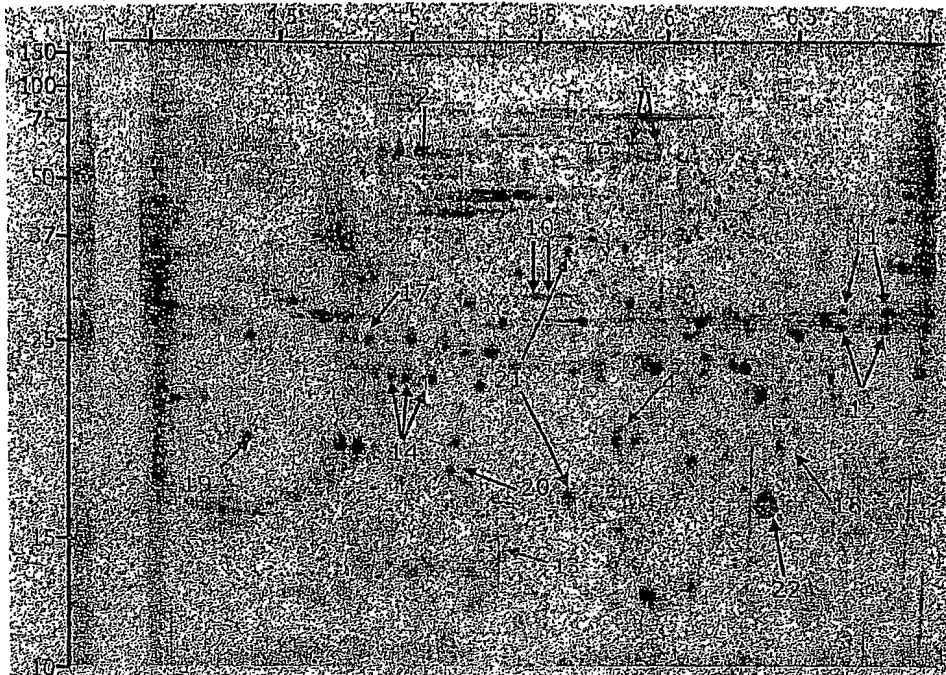
A



C

Vergleichendes Gel:
Blau= Benigner
Orange= Maligner
Schwarz= Beides

Gel 7 (blau = malignes) und 8 (orange = benignes) Gewebe (pH 4-7)



Gel 9 (blau = malignes) und 10 (orange = benignes) Gewebe (pH 6-10)

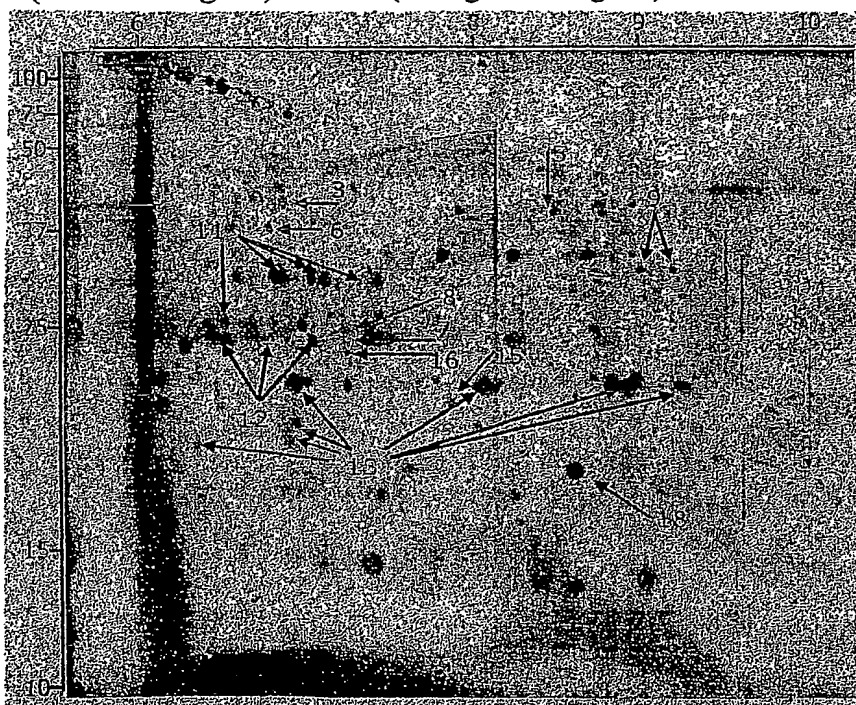
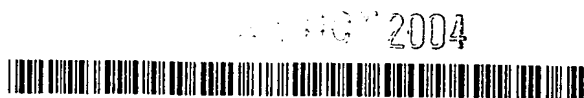


Fig. 3

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
23. Oktober 2003 (23.10.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2003/086461 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 45/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP2003/003892**

(22) Internationales Anmeldedatum:
15. April 2003 (15.04.2003)

(25) Einreichungssprache: **Deutsch**

(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**

(30) Angaben zur Priorität:
102 17 254.4 15. April 2002 (15.04.2002) **DE**

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **PROTEOSYS AG** [DE/DE]; Carl-Zeiss-Strasse 51,
55129 Mainz (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **CAHILL, Michael**
[AU/DE]; Weinbergstrasse 34, 55296 Lörzweiler (DE).
WOZNY, Wojciech [PL/DE]; Gutenbergstrasse 14,
55268 Nieder-Olm (DE). **SCHRATTENHOLZ, André**
[DE/DE]; Hinter der Kirche 49, 55129 Mainz (DE).
KLOCKER, Helmut [AT/AT]; Ziegelstrasse 46a, A-6401
Inzing (AT). **ROGATSCH, Hermann** [AT/AT]; Hans-Un-
termüller-Strasse 5/12, A-6020 Innsbruck (AT).

(74) Anwalt: **PATENTANWÄLTE RUFF, WILHELM,
BEIER, DAUSTER & PARTNER**; Kronenstrasse 30,
70174 Stuttgart (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: **5. Februar 2004**

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: **USE OF SUBSTANCES FOR TREATING TUMORS**

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON SUBSTANZEN ZUR BEHANDLUNG VON TUMOREN**

(57) Abstract: The invention relates to the use of an active ingredient, to a method for preventing or treating tumors, to the diagnostic detection of diseases associated with these tumors, and to corresponding pharmaceutical compositions and kits.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Wirkstoffes sowie ein Verfahren zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, diagnostischen Nachweis von mit diesen Tumoren assoziierten Erkrankungen, sowie diesbezügliche pharmazeutische Zusammensetzungen und Kits.

WO 2003/086461 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/03892

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K45/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 236 844 A (BELLOCQ JEAN-PIERRE ET AL) 17 August 1993 (1993-08-17) column 3, line 31-37 column 4, line 56-61 column 10, line 30 -column 11, line 42 ---	1,2,4
X	US 6 034 218 A (TWARDZIK DANIEL R ET AL) 7 March 2000 (2000-03-07) column 2, line 37-42 column 4, line 35-58 column 20, line 55 -column 21, line 15 --- -/--	1,2,4



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"8" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 August 2003

Date of mailing of the international search report

02 12 2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Engl, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/03892

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02 20731 A (BAYER AG ;XIAO YONGHONG (US)) 14 March 2002 (2002-03-14) page 2, line 23-28 page 10, line 17,18; figure 33 page 12, line 30 -page 13, line 6 page 23, line 3-11 page 32, line 29 -page 36, line 25 page 53, line 21 -page 54, line 25 ---	1
X	WO 00 33861 A (BARTORELLI ALBERTO ;PHARMAPRODUCTS UK LIMITED (GB)) 15 June 2000 (2000-06-15) the whole document ---	1,2,4
A	LINDQUIST JONATHAN A ET AL: "ER-60, a chaperone with thiol-dependent reductase activity involved in MHC class I assembly" EMBO JOURNAL, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 17, no. 8, 15 April 1998 (1998-04-15), pages 2186-2195, XP002246985 ISSN: 0261-4189 abstract -----	1,2,4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 03/03892

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see supplement sheet ADDITIONAL MATTER

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1, 2, 4 (partly)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Box 1.2

The claims relate to the use of an active substance and to compositions containing an active substance which influences the expression and/or function of proteins synthesised and/or secreted by a tumour in eukaryotic cells.

The phrase "which influences the expression AND/OR function of proteins synthesised and/or secreted by a tumour" gives no indication of the type of protein involved; it is not even clear whether the proteins are specifically secreted by tumour cells (i.e. in contrast to non-tumourous cells) or whether they can be any proteins secreted by the tumour. It is also not clear what function of the secreted proteins is supposed to be influenced. Thus the phrase does not even indicate a desired course of action, let alone provide a functional definition, and is therefore of no use as a definition of the active substance.

There is no structural definition of the active substance.

Since neither the active substance nor its function is defined, the claims fail to provide a definition of the subject matter for which protection is sought (PCT Article 6) and cannot therefore be searched.

According to the description (page 7, line 25 ff.), the proteins secreted by the tumour are those listed in Table I (pages 9-11). The active substance which influences these proteins is supposed to be, for example (see page 16, lines 11-29), a polynucleotide encoding the expression of a peptide that inhibits tumour-secreted proteins, or an unspecified "small molecular compound". No further details regarding the type or composition of the active substance are found in the description. Thus the description states the desired principle of action of tumour-secreted protein inhibition, but does not disclose how a person skilled in the art would be able to achieve the desired effect. Hence the invention is not disclosed in a manner sufficiently clear and complete to be carried out by a person skilled in the art, and the application therefore fails to meet the requirement of PCT Article 5.

The lack of unity of invention (see comments below) was therefore taken into account when carrying out the search, which was restricted to the inhibition of proteins expressed by a tumour and listed in Table I as indicated in the description.

The applicant is advised that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subject matter that has not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II.

Box II.4

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, namely:

1. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being protein disulphide isomerase ER-60 precursor.

2. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being ATP synthase beta chain mitochondrial precursor.

3. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (XM_028869) isocitrate dehydrogenase 1 (NADP+), soluble.

4. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being M12387 haptoglobin precursor.

5. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein (NM_000291) phosphoglycerate kinase 1.

6. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_018946) *N*-acetylneuraminic acid phosphate synthase.

7. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (BC003119) similar to ATP synthase.

8. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_004039) annexin A2, annexin II.

9. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_005918) malate dehydrogenase 2.

10. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_002818) proteasome.

11. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being gamma seminoprotein.

12. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being Chain A triosephosphate isomerase.

13. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_003186) transgelin.

14. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_006708) glyoxalase.

15. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_002567) prostatic binding protein.

16. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (AB001517) KNP-1 beta protein.

17. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_005079) tumour protein D52.

18. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_005507) cofilin 1 (non-muscle).

19. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_003197) transcription elongation factor B polypeptide 1-like, organ of Corti protein 2.

20. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being (NM_001970) eukaryotic translation initiation factor 5A.

21. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being Chain A, structure of human transthyretin complexed with bromophenol.

22. Claims 1, 2 and 4 (all in part)

Use of an active substance to prevent or treat tumours, the active substance being a substance that influences the expression of proteins synthesised/secreted by the tumour, and the protein being fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated).

23. Claims 3 and 5 (in part)

Use of a substance to detect the expression of proteins synthesised/secreted by tumours in order to identify diseases associated with the tumours.

24. Claim 14 (in part)

Pharmaceutical composition comprising an effective amount of at least one active substance that influences the expression and/or function of proteins synthesised and/or secreted by tumours.

25. Claim 22 (in part)

Diagnostic kit comprising at least one substance to detect the expression and/or function of proteins synthesised and/or secreted by tumours in order to identify diseases associated with the tumours.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/03892

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5236844	A	17-08-1993	GB 2250993 A AT 152179 T AU 646914 B AU 9089691 A CA 2073860 A DE 69125824 D DE 69125824 T DK 513316 T EP 0513316 A ES 2101079 T WO 9209701 A GR 3023560 T HU 65373 A,B IE 914056 A JP 5505530 T NZ 240688 A NZ 260705 A PT 99562 A,B US 5484726 A ZA 9109219 A	24-06-1992 15-05-1997 10-03-1994 25-06-1992 22-05-1992 28-05-1997 07-08-1997 20-05-1997 19-11-1992 01-07-1997 11-06-1992 29-08-1997 02-05-1994 03-06-1992 19-08-1993 27-09-1994 26-05-1997 30-10-1992 16-01-1996 28-10-1992
US 6034218	A	07-03-2000	AU 9689398 A WO 9918210 A AU 728186 B AU 2329597 A BR 9708082 A CA 2249742 A EP 0914335 A NO 984229 A NZ 331866 A WO 9733909 A ZA 9702238 A	27-04-1999 15-04-1999 04-01-2001 01-10-1997 27-07-1999 18-09-1997 12-05-1999 13-11-1998 26-05-2000 18-09-1997 17-09-1997
WO 0220731	A	14-03-2002	AU 8986401 A	22-03-2002
WO 0033861	A	15-06-2000	IT MI982634 A AT 239499 T AU 1507300 A DE 69907727 D EP 1137433 A JP 2002531514 T US 2003152565 A	05-06-2000 15-05-2003 26-06-2000 12-06-2003 04-10-2001 24-09-2002 14-08-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen

PCT/EP 03/03892

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K45/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 236 844 A (BELLOCQ JEAN-PIERRE ET AL) 17. August 1993 (1993-08-17) Spalte 3, Zeile 31-37 Spalte 4, Zeile 56-61 Spalte 10, Zeile 30 -Spalte 11, Zeile 42 ---	1,2,4
X	US 6 034 218 A (TWARDZIK DANIEL R ET AL) 7. März 2000 (2000-03-07) Spalte 2, Zeile 37-42 Spalte 4, Zeile 35-58 Spalte 20, Zeile 55 -Spalte 21, Zeile 15 --- -/-	1,2,4



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

26. August 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

02.12.2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Engl, B

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02 20731 A (BAYER AG ;XIAO YONGHONG (US)) 14. März 2002 (2002-03-14) Seite 2, Zeile 23-28 Seite 10, Zeile 17,18; Abbildung 33 Seite 12, Zeile 30 -Seite 13, Zeile 6 Seite 23, Zeile 3-11 Seite 32, Zeile 29 -Seite 36, Zeile 25 Seite 53, Zeile 21 -Seite 54, Zeile 25 -----	1
X	WO 00 33861 A (BARTORELLI ALBERTO ;PHARMAPRODUCTS UK LIMITED (GB)) 15. Juni 2000 (2000-06-15) das ganze Dokument -----	1,2,4
A	LINDQUIST JONATHAN A ET AL: "ER-60, a chaperone with thiol-dependent reductase activity involved in MHC class I assembly" EMBO JOURNAL, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, Bd. 17, Nr. 8, 15. April 1998 (1998-04-15), Seiten 2186-2195, XP002246985 ISSN: 0261-4189 Zusammenfassung -----	1,2,4

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. _____
4. ☒ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
1,2,4 (je teilweise)

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Die Ansprüche betreffen die Verwendung eines Wirkstoffes, bzw. Zusammensetzungen enthaltend einen Wirkstoff, welcher die Expression und/oder die Funktion von von einem Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen in eukaryotischen Zellen beeinflusst.

Der Ausdruck "welcher die Expression und/ODER die Funktion von vom Tumor synthetisierten und/oder sezernierten Proteinen beeinflusst" gibt keinerlei Aufschluss darüber, welcher Art die Proteine sein sollen; es ist nicht einmal klar, ob diese Proteine von Tumorzellen spezifisch (d.h. im Gegensatz zu nicht-tumoralen Zellen) sezerniert werden sollen oder ob es sich um irgendwelche vom Tumor sezernierten Proteine handeln kann. Auch ist nicht klar, welche Funktion sezernierter Proteine beeinflusst werden soll. Dieser Ausdruck ist daher nicht einmal die Angabe eines erwünschten Wirkungsablaufs, keinesfalls aber eine funktionelle Definition und somit zur Bezeichnung des Wirkstoffes unbrauchbar.

Eine strukturelle Definition des Wirkstoffes ist überhaupt nicht angegeben.

Da der Wirkstoff und seine Funktion in keiner Weise definiert ist, definieren die Ansprüche nicht, wie in Artikel 6 PCT gefordert, den Gegenstand, für welchen Schutz begehrt wird, und sind somit nicht recherchierbar.

Gemäss Seite 7, Zeilen 25 ff. der Beschreibung kann es sich bei den vom Tumor sezernierten Proteinen um die in Tabelle I (Seiten 9-11) aufgelisteten handeln. Der diese Proteine beeinflussende Wirkstoff soll gemäss Seite 16, Zeilen 11-29, etwa ein Polynukleotid, welches ein die Expression von von Tumoren sezernierten Proteinen inhibierendes Peptid kodiert, oder ein - nicht näher bezeichneter - "small molecular compound" sein. Nähere Angaben zur Art und Beschaffenheit des Wirkstoffes sind der Beschreibung nicht zu entnehmen. Die Beschreibung legt daher das erwünschte Wirkprinzip einer Inhibierung von von einem Tumor sezernierten Proteinen dar, offenbart jedoch nicht die Mittel, mit welchen ein Fachmann diese erwünschte Wirkung erzielen kann. Die Erfindung ist daher nicht so deutlich und vollständig offenbart, dass ein Fachmann sie ausführen kann; die Anmeldung erfüllt daher auch nicht die Erfordernisse des Artikels 5 PCT.

Die Recherche wurde daher unter Berücksichtigung der mangelnden Einheitlichkeit der Anmeldung (siehe diesbezügliche Ausführungen) auf die Inhibierung von von einem Tumor exprimierten in Tabelle I der vorliegenden Beschreibung aufgelisteten Proteinen beschränkt.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (BC003119) similar to ATP synthase ist.

8. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_004039) annexin A2, Annexin II ist.

9. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_005918) malate dehydrogenase 2 ist.

10. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_002818) proteaseome ist.

11. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein gamma seminoprotein ist.

12. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein Chain A Triosephosphate isomerase ist.

13. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_003186) transgelin ist.

14. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_006708) glyoxalase ist.

15. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_002567) prostatic binding protein ist.

16. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (AB001517) KNP-I beta protein ist.

17. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_005079) tumor protein D52 ist.

18. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_005507) cofilin 1 (non-muscle) ist.

19. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_003197) transcription elongation factor B polypeptide 1-like, organ of Corti protein ist 2 ist.

20. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_001970) eukaryotic translation initiation factor 5A ist.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

1. Ansprüche: 1, 2, 4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein Protein-Disulfid-isomerase ER-60 precursor ist.

2. Ansprüche: 1, 2, 4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein ATP Synthase beta chain, mitochondrial precursor ist.

3. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (XM_028869) isocitrate dehydrogenase 1 (NADP+), soluble ist.

4. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein M12387 haptoglobin precursor ist.

5. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_000291) phosphoglycerate kinase 1 ist.

6. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein (NM_018946) N-acetylneuraminic acid phosphate synthase ist.

7. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

21. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein Chain A, Structure of Human Transthyretin Complexed with Bromophenols ist.

22. Ansprüche: 1,2,4 (je teilweise)

Verwendung eines Wirkstoffes zur Vorbeugung oder Behandlung von Tumoren, wobei der Wirkstoff die Expression von vom Tumor synthetisierten/sezernierten Proteinen beeinflusst, wobei das Protein Fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated) ist.

23. Ansprüche: 3,5 (teilweise)

Verwendung einer Substanz zum Nachweis der Expression von von Tumoren synthetisierten/sezernierten Proteinen zur Erkennung von Erkrankungen, die mit diesen Tumoren im Zusammenhang stehen.

24. Anspruch : 14 (teilweise)

Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend eine wirksame Menge mindestens eines Wirkstoffes, der die Expression und/oder Funktion von von Tumoren synthetisierten u/o sezernierten Proteinen beeinflusst.

25. Anspruch : 22 (teilweise)

Diagnosekit, umfassend mindestens eine Substanz zum Nachweis von Expression u/o Funktion von von Tumoren synthetisierten u/o sezernierten Proteinen zur Erkennung von Krankheiten, die mit diesen Tumoren in Zusammenhang stehen.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/03892

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5236844 A	17-08-1993	GB 2250993 A	24-06-1992
		AT 152179 T	15-05-1997
		AU 646914 B	10-03-1994
		AU 9089691 A	25-06-1992
		CA 2073860 A	22-05-1992
		DE 69125824 D	28-05-1997
		DE 69125824 T	07-08-1997
		DK 513316 T	20-05-1997
		EP 0513316 A	19-11-1992
		ES 2101079 T	01-07-1997
		WO 9209701 A	11-06-1992
		GR 3023560 T	29-08-1997
		HU 65373 A,B	02-05-1994
		IE 914056 A	03-06-1992
		JP 5505530 T	19-08-1993
		NZ 240688 A	27-09-1994
		NZ 260705 A	26-05-1997
		PT 99562 A,B	30-10-1992
		US 5484726 A	16-01-1996
		ZA 9109219 A	28-10-1992
US 6034218 A	07-03-2000	AU 9689398 A	27-04-1999
		WO 9918210 A	15-04-1999
		AU 728186 B	04-01-2001
		AU 2329597 A	01-10-1997
		BR 9708082 A	27-07-1999
		CA 2249742 A	18-09-1997
		EP 0914335 A	12-05-1999
		NO 984229 A	13-11-1998
		NZ 331866 A	26-05-2000
		WO 9733909 A	18-09-1997
		ZA 9702238 A	17-09-1997
WO 0220731 A	14-03-2002	AU 8986401 A	22-03-2002
WO 0033861 A	15-06-2000	IT MI982634 A	05-06-2000
		AT 239499 T	15-05-2003
		AU 1507300 A	26-06-2000
		DE 69907727 D	12-06-2003
		EP 1137433 A	04-10-2001
		JP 2002531514 T	24-09-2002
		US 2003152565 A	14-08-2003

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ ~~FADED~~ TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ ~~SKewed~~/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.